Die Tetracyclinverteilung im regelrechten und pyelonephritisch veränderten Nierengewebe der Ratte

INAUGURALDISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde der

HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
DER UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

vorgelegt von

Günther Stephan

Saarbrücken

1971

Druck:
Universitätsbibliothek Saarbrücken

Aus der Urologischen Klinik der Universität
des Saarlandes

Direktor: Professor Dr. med. C. E. Alken

Die Tetracyclinverteilung im regelrechten und pyelonephritisch veränderten Nierengewebe der Ratte

I N A U G U R A L D I S S E R T A T I O N

zur Erlangung der Doktorwürde
der
HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
DER UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

1971

vorgelegt von

Günther Stephan

geb. am 7.4.1936 in Posen

Dekan: Prof. Dr. med. H. Kulenkampff
Referent: Prof. Dr. med. C. E. Alken

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Die mündliche Promotionsprüfung wurde am 15.1.1971 abgelegt.

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung	5
1.1	Kriterien der Chemotherapie	5
1.2	Möglichkeiten der Darstellung von Chemotherapeutika	7
2.	Fragestellung	8
3.	Schriftum	9
3.1	Die pharmakologischen und pharmakodynamischen Eigenschaften der Tetracycline	1o
3.2	Fluoreszenzoptische Untersuchungen	13
3.3	Möglichkeiten der Pyelonephritiserzeugung	17
3.4	Die Keimmenge	2o
3.5	Histologische Methodik	2o
3.51	Die Gefriertrocknung	2o
3.52	Der Nativgefrierschnitt	21
4.	Ausgangsmaterial	22
5.	Eigene Untersuchungen	22
5.1	Die Pyelonephritiserzeugung	22
5.2	Die Keimzahlbestimmung	23
5.3	Die Applikation der Tetracycline	26
6.	Untersuchungstechnik	27
7.	Photographische Technik	29
8.	Ergebnisse und Befunde	31
8.1	Unbehandelte Kontrolltiere	31
8.2	Behandelte Kontrolltiere	32

8.3 Behandelte Kontrolltiere mit Diodrastblockade 34
8.4 Behandelte Tiere mit einer Pyelonephritis 35
8.5 Behandelte Tiere mit Pyelonephritis und Harnstauung 36

9. Zusammenfassung der eigenen Befunde 37

1o. Diskussion 39
1o.1 Schlußfolgerungen für die Therapie der Pyelonephritis 43

11. Zusammenfassung 44

12. Photographische Abbildungen 45

13. Literaturverzeichnis 56

14. Danksagung 64

15. Lebenslauf 65

1. Einleitung

Die Pyelonephritis ist die häufigste Nierenerkrankung. Sie wird als eine bakterielle, herdförmige, interstitielle Nephritis definiert. Die Behandlung, besonders der chronischen Verlaufsform, gestaltet sich oft sehr schwierig, nicht selten treten Rezidive auf.

1.1 Kriterien der Chemotherapie

Die Therapie mit Antibiotika und Chemotherapeutika kann als ein Konzentrationsgeschehen am Wirkungsort verstanden werden (NAUMANN und HUBMANN 1966). Bei der Pyelonephritis ist dieser Wirkungsort der Sitz der Bakterien, vorwiegend das Interstitium, aber auch die Tubuluslumina der Niere.

Für eine sinnvolle Chemotherapie ist die Kenntnis der unterschiedlichen physikalisch-chemischen, antibakteriellen und pharmakodynamischen Eigenschaften der Medikamente, wie z. B. Löslichkeit, Eiweißbindung, Halbwertszeiten, Ausscheidung und Wirkungsspektrum wichtig.

Viele Chemotherapeutika haben gleichzeitig sowohl wirksame Serum- als auch ausreichende Urinkonzentrationen, da die Elimination vorwiegend durch die Nieren erfolgt. Beim Vorliegen einer Cystitis genügen Substanzen, die ausschließlich antibakteriell wirksame Urinkonzentrationen erreichen. Liegt eine Entzündung des Nierenparenchyms vor, so sind ausreichend hohe Serumwerte erforderlich.

Die Konzentrationen in der interstitiellen Flüssigkeit entsprechen der Serumkonzentration.

Nach McCABE und JACKSON (1965) konnte bei 84 Fällen kein signifikanter Unterschied in der Heilungsquote zwischen Patienten gefunden werden, bei denen die wirksame Antibiotikakonzentration im Serum die minimale Hemmkonzentration der Erreger erreichte und bei denen sie niedriger blieb. Dagegen beschrieben TURK, BROWDER, LINDENMEYER, BROWN, ANDERSON und PETERSDORFF (1962) die höchste Rezidivquote bei alleiniger Behandlung mit Substanzen, die keine ausreichende Hemmkonzentration im Serum ausbilden.

DOMADIAN, SHWAYRI und BRICKER (1965) konnten in ihren Untersuchungen zeigen, daß es innerhalb der pyelonephritischen Infiltrate durch Funktionsausfall der betroffenen Nephren nicht zu einer Harnkonzentrierung in den Tubuli kommt. Es erfolgt bei der Pyelonephritis auch keine Konzentrierung der Antibiotika in den Tubuli.

STAMEY, GOVAN und PALMER (1965) kamen auf Grund theoretischer Überlegungen, indem sie die Antibiotikakonzentration im Interstitium der Markpapille gleich der im Nierenbeckenurin setzten, zu dem Schluß, daß es bei der Pyelonephritisbehandlung auf Substanzen mit hoher Urinkonzentration und nicht auf hohe Serumwerte ankomme.

Eine Anreicherung von lipoidlöslichen Substanzen im Interstitium der Niere durch Rückdiffusion aus dem Tubuluslumen - COCKETT, ROBERTS und MOORE (1965) und

HUBMANN (1967) – wurde diskutiert, konnte jedoch nicht nachgewiesen werden.

Die Diskussion um den Wert der Urinkonzentration für die Behandlung der Pyelonephritis ließ es sinnvoll erscheinen, mikroskopisch die Verteilung eines Antibiotikums in den verschiedenen Gewebsstrukturen, wie Zelle, Interstitium, Tubuluslumen und Gefäßsystem der Niere, zu untersuchen.

1.2 Möglichkeiten der Darstellung von Chemotherapeutika

Zur Darstellung von körperfremden Substanzen in Geweben können verschiedene Wege beschritten werden. In Anlehnung an die histologischen Färbungen, die auch zur Fixierung von Neutralfetten, Glykogen und Cholesterin benutzt werden können, ist hier die Mikrohistochemie zu nennen. Mit ihrer Hilfe gelang es, durch Ausfällung und Anfärbung z. B. Vitamine, wie die Ascorbinsäure; Heparin und Acetylcholin sichtbar zu machen.

Um das Vorhandensein von Chemotherapeutika in Geweben und Organen nachzuweisen, wurden Gewebshomogenate hergestellt und die zu erwartenden Substanzen extrahiert und anschließend photometrisch gemessen. Dieses Vorgehen hat nur quantitativen Charakter, eine genauere Aussage über den Ort im Gewebe oder Organ kann nicht gemacht werden. Diesen Nachteil gleicht die sehr aufwendige Methode der Radio-Isotopentechnik (ZUM WINKEL 1964) aus. Hierbei können sowohl die Menge als auch der Ort einer markierten Substanz in bestimmten Organen und Geweben festgestellt werden. Eine weitere Möglichkeit bot sich durch die von

HIRT und ELLINGER (1930) entwickelte Methode der Fluoreszenzmikroskopie an. Voraussetzung ist, daß die zu untersuchende Substanz im ultravioletten Licht fluoresziert. Diese Methode hat den Vorteil, daß sie, ohne die Organ- und Gewebsstrukturen zu verändern, den Ort des fluoreszierenden Chemotherapeutikums angibt. Ferner kann die Intensität der Fluoreszenz als Maßstab für die Konzentration des Mittels genommen werden. Für die Untersuchung boten sich die Tetracycline an. Die vorliegende Arbeit behandelt die Verteilung von Tetracyclinen im normalen und im pyelonephritisch veränderten Nierengewebe der Ratte.

2. Fragestellung

An zahlreichen Untersuchungen wurde anhand von Gewebshomogenaten und Ganzkörperschnitten die Verteilung von Chemotherapeutika im Organismus studiert. Diese Versuche wurden hauptsächlich an gesunden Tieren vorgenommen. Es fehlten mikroskopische Untersuchungen über die Diffusion und Verteilung von Chemotherapeutika in entzündlich veränderten Gewebsstrukturen, vor allem in der Niere. Wir unternahmen den Versuch, die Verteilung der Tetracycline in verschiedenen Anteilen der Niere festzustellen, um die Anwendbarkeit dieser Antibiotika und damit die Indikation für die Behandlung entzündlicher Nierenerkrankungen zu präzisieren.

Da die Tetracycline eine natürliche Fluoreszenz be-

sitzen und bisher, mit Ausnahme von HELANDER und BÖTTIGER (1953) und BÖTTIGER (1955), nur Auflichtuntersuchungen mit Tetracyclinen gemacht wurden, benutzten wir für unsere Untersuchungen die Methode der Fluoreszenzmikroskopie.

3. Schriftum

Seit Entdeckung des Tetracyclins im Jahre 1948 durch B.M. DUGGAR ist inzwischen über dieses erste Breitbandantibiotikum eine sehr umfangreiche Literatur entstanden. Es soll nur über die für diese Untersuchung wesentlichen Arbeiten berichtet werden. Das Tetracyclin wurde aus Streptomycesarten isoliert und wird jetzt synthetisch hergestellt. Es gehört zu den Breitbandantibiotika und ist wirksam gegen Gramnegative und Grampositive Bakterien, Rickettsien und große Viren. Es hat einen bakteriostatischen Effekt. Die antibakterielle Wirkung beruht auf einer Störung der Eiweißsynthese. Die Toxität und die Nebenwirkungen sind gering, bekannt sind allergische Reaktionen, Nausea, Diarrhoen und eine Photosensibilität.

Zu der Gruppe der Tetracycline gehören unter anderen das Tetracyclin (TC), das Oxytetracyclin (OTC), das Chlortetracyclin (CTC), das Demethylchlortetracyclin (DMTC), das Methacyclin (MC).

Die einzelnen Substanzen unterscheiden sich im wesentlichen hinsichtlich ihrer Ausscheidungsmechanismen.

REGNA und SOLOMONS (195o) untersuchten die chemischen und physikalischen Eigenschaften des Oxytetracyclins. Das kristalline Antibiotikum ist eine amphotere Substanz, die sowohl mit Säuren als auch mit Basen Salze bildet, und am isoelektrischen Punkt unlöslich ist. Die Salze sind gut wasserlöslich, einige lösen sich auch in organischen Mitteln, wie z. B. in Azeton, Äthanol und Methanol. Das Oxytetracyclin und seine Salze sind physikalisch stabile Verbindungen. Erhitzungen auf 1oo° C vier Tage lang hatten keine Veränderungen zur Folge. Das ultraviolette Absorptionsspektrum zeigte seine Maxima bei 266 und 366 my. Eine Abnahme der Aktivität um 5 % konnte nach 4monatiger Aufbewahrungszeit bei 56° C festgestellt werden.

3.1 Die pharmakologischen und pharmakodynamischen Eigenschaften der Tetracycline

MILBERG und Mitarbeiter (1954) fanden bei entsprechender Dosierung ausreichende Hemmkonzentrationen im Serum und im Urin gegen die häufigsten Erreger. Die Tetracycline sind für die Plazenta durchgängig, sie wurden auch im Liquor, in der Pleura und im Aszites gefunden. Dabei wurden folgende Konzentrationen gemessen:
Im Liquor 25 % des Serumspiegels,
im Aszites 5o % des Serumspiegels,
in der Plazenta 88 % des mütterlichen Blutspiegels.

Die Untersuchungen wurden am Menschen vorgenommen.

Umfangreiche Untersuchungen über die pharmakodynamischen Eigenschaften der verschiedenen Tetracycline machten KUNIN, DORNBUSH und FINLAND (1959), KUNIN (1962), SCHACH VON WITTENAU und YEARY (1963). Sie untersuchten die Eiweißbindung, die Clearance, die Halbwertszeit, die Urinausscheidung und das relative Verteilungsvolumen von verschiedenen Tetracyclinen. Danach hat die höchste Eiweißbindung das Demethylchlortetracyclin (DMTC) mit 47 %, Chlortetracyclin (CTC) wird zu 41 % an Protein gebunden, für Tetracyclin (TC) wurden 24 bis 35,6 % gefunden, die niedrigste Eiweißbindung hat das Oxytetracyclin (OTC) mit 2o %. Die höchste Clearance, gemessen in ml pro Minute, beträgt beim Menschen für Oxytetracyclin 98,6. Es folgen Tetracyclin mit 5o,2 und Chlortetracyclin mit 32,1. Demethylchlortetracyclin hat die geringste Clearance mit 6,7 ml pro Minute. Die Halbwertszeiten, ausgedrückt in Stunden, betragen für Demethylchlortetracyclin 12,7, für Oxytetracyclin 9,2, für Tetracyclin 8,2 und für Chlortetracyclin 5,6. Die Urinausscheidung ist für Oxytetracyclin mit 7o % am höchsten, Tetracyclin wird zu 6o % im Urin ausgeschieden, für Demethylchlortetracyclin beträgt sie 42 %, für Chlortetracyclin ist sie am geringsten mit 18 %. Das relative Verteilungsvolumen, gemessen in Litern, ist für OTC 128, für DMTC 121,o, für TC 1o8,7 und für CTC 1oo,o.

Die pharmakodynamischen Eigenschaften der verschiedenen Tetracycline

Name	Eiweißbindung	Clearance ml / Min.	Halbwerts-zeit in Std.	Urinausscheidg 4 Tage % d. Dosis	Relat. Verteilungs-volumen in Litern
TC	24-35,6 %	5o,2	8,2	6o %	1o8,7
OTC	2o %	98,6	9,2	7o %	128,o
DMTC	47 %	6,7	12,7	42 %	121,o
CTC	41 %	32,1	5,6	18 %	1oo,o
MC	78,5 %	31,3	14,3	--	79,4

MC = Methacyclin

Die Werte wurden bei einer Dosis von 5oo mg ermittelt. Siehe bei KUNIN, DORNBUSH und FINLAND (1959), KUNIN (1962) und SCHACH VON WITTENAU und YEARY (1963)

ENGELUND, TERP und TROLLE-LASSEN (1956) berichteten bei ihren Studien über die Nierenausscheidung der Tetracycline von hohen Konzentrationen im Urin mit einer verzögerten Ausscheidung in den ersten 12 Stunden, verglichen mit der Plasmakonzentration. Als Ursache sahen sie die langsame Freigabe der Tetracycline aus dem R E S und ferner einen inneren Kreislauf zwischen Leber, Galle, Darm und Leber an. Diese erneute Reabsorption der über die Galle ausgeschiedenen Tetracycline im Darm führt zu einem längeren Verweilen im Organismus. Die durchschnittliche Eiweißbindung beträgt 59 %. Die Ausscheidung durch die Nieren erfolgt durch glomeruläre Filtration zu 5o % und durch tubuläre Sekretion, unabhängig von der Azidität des Urins.

3.2 Fluoreszenzoptische Untersuchungen

SALZMANN (195o) beschrieb als erster eine Blaufluoreszenz des Chlortetracyclins im UV-Licht im basischen Milieu. Dieselbe Substanz fluoreszierte gelb bis orange im sauren Milieu. Das fluoreszierende Material war auch mikrobiologisch aktiv.

HELANDER und BÖTTIGER (1953) und BÖTTIGER (1955) benutzten die Methode der Fluoreszenzmikroskopie zur Untersuchung der Verteilung von Tetracyclinen. Die Tetracycline wurden in einer Dosis von 2,5 mg/kg Körpergewicht sowohl intramuskulär als auch intravenös gegeben und die Tiere 2 Stunden nach erfolgter Injektion getötet. Die herausgenommenen Organe wurden gefriergetrocknet

und in Paraffin eingebettet. Davon wurden normale Schnitte hergestellt. 2 Stunden nach intramuskulärer Gabe zeigten die Glomerula der Niere nur eine normale Eigenfluoreszenz. Die Mehrzahl der Nephrone hatte eine feine gelbgrüne Fluoreszenz der proximalen Tubuli, nur eine geringe Zahl hatte normale Eigenfluoreszenz. Der Hauptteil der distalen gewundenen Tubuli zeigte eine extreme Gelbgrünfluoreszenz. Die Zellkerne hatten eine normale Eigenfluoreszenz. In den Lumina der genannten Tubuli waren sehr viele Partikel mit gelbgrüner Fluoreszenz, in den Lumina der Sammelrohre eine überwiegend gelbgrüne Fluoreszenz zu sehen. Das Bindegewebe hatte nur Eigenfluoreszenz. Eine Zunahme der Fluoreszenz in den Organen des Retikulo-Endothelialen Systems war in den Fällen zu beobachten, bei denen ein größerer Zeitraum, z. B. 8 Stunden, zwischen Injektion und Tötung vergangen war; die Fluoreszenz war besonders intensiv in den Organen, die der Ausscheidung dienen - Niere, Leber, Darm- und Lymphknoten, Knochenmark, Milz und Leber als Vertreter des RES. Unterschiede zwischen Oxy- und Chlortetracyclin wurden dabei nicht festgestellt. Die Tetracycline wurden schnell absorbiert, unabhängig von der Applikationsart. Allerdings waren die Konzentrationen höher als nach parenteraler Gabe. Die nicht resorbierten Tetracycline wurden in den Fäces ausgeschieden. Ein großer Teil wurde durch die Niere eliminiert. Eine spezifische Affinität der Tetracycline gegenüber einem Gewebe oder einem Organ scheint nicht zu bestehen.

Umfangreiche Untersuchungen über das Verhalten der Tetracycline im Organismus in pathologisch veränderten Geweben stammen von MALEK und seinen Mitarbeitern. Sie benutzten ebenfalls die Methode der Auflichtfluoreszenz. Sie fanden eine intensive Fluoreszenz bei Frakturen, besonders unter dem Periost und Endost, im Knochenkallus, während der übrige Knochen schwächer fluoreszierte.
Weiterhin fanden sie eine starke Fluoreszenz in Tumoren, in ischämischen Bezirken beim experimentellen Herzinfarkt, in Magenulcera und in Nekrosen. Eine besondere intensive Fluoreszenz wurde bei verkalkten Nekrosen gefunden. Die Intensität der Fluoreszenz war abhängig vom Kalkgehalt. Die Tetracycline scheinen mit dem Kalzium einen unlösbaren Komplex zu bilden.

Häkkinen (1958) konnte eine vermehrte Fluoreszenz in verschiedenen Metastasen feststellen, die mit AT 1o behandelt wurden.

MALEK, ZASTAVA, ZAK, KOCVARA und KOLC (1963) beschrieben durch Auflichtuntersuchungen eine unterschiedliche Verteilung von Oxy- und Chlortetracyclin in der Niere. Danach soll Chlortetracyclin hauptsächlich in der Rinde vorkommen, während Oxytetracyclin weniger in der Rinde, dafür mehr im Mark fluoresziert. Um möglichst lange die Originalbilder zu erhalten, wurden die Nieren in einem Azeton-Kohlensäureschneegemisch eingefroren.

Bei den pyelonephritischen Veränderungen, ausgelöst durch Injektion von Staphylokokkensuspensionen, kamen zwei verschiedene Arten vor: eine mehr abszedierende Form und eine mehr infiltrative Form. Bei der Abszessform kam es um die Abszesse zu einem intensiven fluoreszierenden Wall. Die interstitiellen Infiltrationen waren durch streifenförmige, radiär angeordnete Fluoreszenzstraßen charakterisiert. Diese streifenförmige Fluoreszenz war unterschiedlich breit und lang, es gab intensive, lange und kürzere Strecken. Auch unregelmäßige Herde in der Rinde, bis ins Mark reichend,

wurden beschrieben. Weitere Aussagen waren durch die Auflichtuntersuchungen nicht möglich.

Die Fluoreszenz bei der Hydronephrose ist geringer, die sogar mit Fortschreiten des Prozesses abnimmt. Hier kommt es ebenfalls zu einer unterschiedlichen Verteilung des Oxytetracyclins und des Chlortetracyclins.

TAPP, CARROLL und KOVAC (1964) untersuchten die Tetracyclinaufnahme bei vorübergehenden ischämischen Zuständen der Niere. In den geschädigten Tubuluszellen kommt es zu einer intensiven Speicherung, auch wenn histologische Veränderungen noch unausgeprägt sind. Nach 24 Stunden ist die Nekrose abgegrenzt. Die hyalinen eosinophilen Zylinder in den proximalen Tubuluslumen nehmen in den ersten 24 Stunden kein Tetracyclin auf. Sobald sich diese Zylinder nur noch aus nekrotischen Zellen zusammensetzen oder Kalkeinlagerungen vorhanden sind, fluoreszieren sie intensiv. Unterschiede in der Fluoreszenz bei ganz verschiedenen Nekroseursachen haben sich nicht feststellen lassen.

Die Tetracyclinaufnahme in der Niere kann auch für die Beurteilung renaler Blutverteilungsänderungen herangezogen werden. Nach Nierenstielabklemmungen trat erwartungsgemäß keine Fluoreszenz auf, zeitweilige Nierenstielabklemmung hatte eine verzögerte Aufnahme zur Folge, abhängig von dem Zeitpunkt der Tetracyclininjektion und der Erholung der Nierendurchblutung.

HELANDER (1944) studierte mit Hilfe der Fluoreszenzmikroskopie die Verteilung einiger Sulfonamide im Organismus. In Nierengewebsschnitten fand er eine Rotfluoreszenz von Prontosil gegenüber der blaugrünen Eigenfluoreszenz der Organstrukturen. Zu Beginn war eine Rotfluoreszenz in den Glomerula und in den Bürstensäumen der proximalen Tubuli zu sehen. Nach etwa 1o Minuten trat eine schwach rote Fluoreszenz in den apikalen Anteilen der Hauptstück-Epithelzellen auf. Eine stärkere

Rotfluoreszenz ging von den Lumina der Sammelrohre aus. Außerdem fand sich eine intensive Rotfärbung der elastischen kollagenen Fasern.

Sulfathiazol hatte eine Blaufluoreszenz, die bei einer Erhitzung auf 140° C, fünf Minuten lang, in eine Gelbfärbung umschlug, wobei das Gewebe seine Grundfluoreszenz, eine Blaufluoreszenz, behielt. Ähnliche Verfahren benutzte er zur Darstellung von Sulfanilamid, Sulfapyridin, Papaverin, Inulin. Penicillin hatte danach eine Grünfluoreszenz, Salizylsäure nach Erhitzung eine Gelbfluoreszenz.

Das an die pathologischen Zellen gebundene Tetracyclin ist thermostabil, es verschwindet nicht beim Kochen, dagegen ist das freie Tetracyclin thermolabil (MALEK, KOLC, ZAK und ZASTAVA 1962). Die Fixation mit steigenden Reihen von Formol oder Alkohol ist unter anderem nicht möglich, da es zum Herauslösen des Tetracyclins kommt (REGNA und SOLOMONS 1950).

3.3 Möglichkeiten der Pyelonephritiserzeugung

Die Pyelonephritis kann auf drei verschiedenen Wegen entstehen. Bekannt sind

1. die hämatogene Form,
2. die aszendierende Form,
3. die lymphogen-hämatogene Form.

Die häufigste Entstehungsform ist der hämatogene Weg. Der aszendierende Weg ist besonders bei einer Harnstauung und Insuffizienz der Ureterostien gegeben. Der gestaute Harn bei Harnabflußstörungen, wie Prostataadenom, Strikturen der Harnröhre, Harnleiter- und Blasensteinen, stellt einen guten Nährboden für

pathogene Keime dar. Ferner kann die lympho-hämatogene Aszension durch mechanische Irritation der Schleimhaut bei instrumentellen Untersuchungen, durch Operationen oder durch Fremdkörper ermöglicht werden.
Experimentell läßt sich eine Pyelonephritis auf verschiedene Weisen auslösen. Hauptsächlich werden zwei Wege beschritten:

1. Die pathogenen Keime werden in die Blutbahn gegeben,
2. Inoculation der Infektionserreger in die Blase.

Zum Angehen einer Infektion müssen allerdings einige Voraussetzungen gegeben sein. Eine gesunde Niere mit funktionstüchtigem Parenchym und mit regelrechten ableitenden Harnwegen entwickelt im allgemeinen keine Pyelonephritis. GUZE und BEESON (1956) fanden das Blut nach 48 Stunden frei von Bakterien, desgleichen die intakte Niere. Es bedarf einer Vorschädigung der Niere selbst oder der ableitenden Harnwege, damit eine Infektion sich ausbreiten kann.

LEPPER (1921) führte eine einseitige, zeitweilige Ureterligatur bei intravenöser Gabe der pathogenen Keime durch. Diese einseitige zeitweilige Ureterligatur führte zu einer Harnstauung, die wiederum ein Angehen der Pyelonephritis auslöste. Diese Methode hat den Vorteil, daß jedes einzelne Tier als seine eigene Kontrolle fungiert, da die andere Seite nicht erkrankt.

Entsprechend der Fragestellung kann eine vorübergehende oder eine dauerhafte Ligatur des Ureters herbeigeführt werden. Eine dauernde Obstruktion des Ureters über

Monate führt im Tierexperiment auch ohne Bakterieninoculation zu einer chronischen Pyelonephritis (HEPTINSTALL und BRUMFITT 1955).

Eine weitere Möglichkeit zur Erzeugung einer Pyelonephritis auf hämatogenem Wege ist die mechanische oder thermische Schädigung des Nierenparenchyms, wie Umstechung oder der Elektrokauter (GUZE und BEESON 1956). Am häufigsten wird die sogenannte Nierenmassage durchgeführt (BRAUDE, SIEMINSKI, SHAPIRO 1955). Die Nieren werden bimanuell über mehrere Minuten lang massiert. Diese mechanische Beeinträchtigung erleichtert ebenfalls das Angehen einer Infektion.

Die temporäre Obstruktion der Arteria oder Vena renalis kann ebenfalls die Ausbildung einer Pyelonephritis erleichtern. Als ein weiterer Faktor kann die Kaliumverarmung des Organismus erwähnt werden.

Um eine Pyelonephritis bei Inoculation der pathogenen Keime in die Blase zu ermöglichen, bedarf es der wiederholten Kompression der Blase oder des Hineinbringens von Fremdkörpern in die Blase, z. B. Glasperlen (Methode nach VIVALDI, COTRAN, ZANGWILL und KASS 1959).

In der Häufigkeit der Bakterien als Erreger der Pyelonephritis steht als erster die E.coli-Gruppe, es folgen die Proteus-Gruppe, dann Enterokokken, Aerobacter, Pseudomonas.

3.4 Die Keimmenge

Zur Erzeugung einer Pyelonephritis müssen nach LEPPER, HEPTINSTALL und BROMFITT (1955) sowie PRAT und BENESOVA (1963) mindestens $1o^8$ Keime pro ml gegeben werden.

3.5 Histologische Methodik

Bei der Untersuchung der Tetracyclinverteilung in Organen und Geweben kommen die gebräuchlichsten Färbemethoden, wie Hämatoxilin-Eosin, Giemsa, Azan und andere nicht in Betracht. HIRT und ELLINGER (193o) entwickelten das Verfahren der Fluoreszenzmikroskopie mit Hilfe fluoreszierender Substanzen bei Auflichtuntersuchungen mit UV-Licht. Die Gewebsschnitte können sowohl nativ als auch fixiert betrachtet werden. ALTMANN (1894) entwickelte die Gefriertrocknung von Geweben, GERSH (1932) und KULENKAMPFF (1954) haben diese Methode weiterentwickelt und modifiziert.

3.5.1 Zur Darstellung der Verteilung wasserlöslicher Substanzen in Geweben hat sich die Gefriertrocknung als sehr geeignet herausgestellt (NEUMANN 1952, KULENKAMPFF 1954/55). ZUM WINKEL (1964) benutzte die Radio-Isotopentechnik zur Messung der Verteilung von Substanzen (Inulin PAH) in der Niere und in anderen Organen. Bei der Gefriertrocknung sollten jedoch nur bis stecknadelknopfgroße Gewebsanteile verwendet werden, um eine ausreichende Erhaltung, besonders der intracellu-

lären Strukturen, zu gewährleisten. Bei größeren Gewebsschnitten, wie z. B. Querschnitten ganzer Rattennieren, muß deshalb von vornherein mit dem Entstehen von Artefakten beim Einfrieren gerechnet werden.

Bei der fluoreszenzmikroskopischen Untersuchung gefriergetrockneter Schnitte ist eine relativ starke grün bis grünblaue Eigenfluoreszenz des Nierengewebes zu beobachten (SJÖSTRAND 1944). Diese Eigenfluoreszenz stört die Betrachtung und Beurteilung von Gefrierschnitten bei einer Dosis, wie sie für die antibakterielle Chemotherapie üblich ist.

3.5.2 Der Nativgefrierschnitt

Unter einem nativen Gefrierschnitt versteht man einen ungefärbten und unfixierten Gefrierschnitt. Der Vorteil bei der Betrachtung nativer Schnitte ist, daß sie kaum Eigenfluoreszenz aufweisen und daher schon geringe Mengen fluoreszierender Fremdsubstanzen zu erkennen sind. Nachteilig wirkt sich die relativ kurze Haltbarkeit von nur einigen Stunden aus; danach kommt es zu einer zunehmenden Autolyse mit Auftreten von Eigenfluoreszenz.

Bei Lufttrocknung der Schnitte kommt es zu einer weitgehenden Zerstörung der Nierenstruktur mit gleichmäßiger Fluoreszenzverteilung. Schon ein kurzes Auftauen der nativen Schnitte mit anschließender Trocknung über Phosphorpentoxyd bei -25° C führt zu einer Zerreißung der Zellen durch Bildung von Eiskristallen.

Die Fluoreszenzverteilung bleibt dabei im wesentlichen erhalten.

4. Ausgangsmaterial

Für die Untersuchungen wurden 6o Wistar-Ratten eines Inzuchtstammes mit einem Körpergewicht von 15o-2oo g verwendet. Davon waren 5 Kontrolltiere und 55 infizierte Tiere. Die verwendeten Tetracycline waren das Oxytetracyclin (OTC) und das Chlortetracyclin (OTC). Als pathogene Keime benutzten wir Stämme der Escherichia-coli- und der Klebsiella-Gruppe. Zur Blockade der OTC-Ausscheidung kam Diodrast zur Anwendung.

5. Eigene Untersuchungen

5.1 Die Pyelonephritiserzeugung

Zur Erzeugung einer Pyelonephritis wählten wir in Anlehnung an PRAT und BENESOVA (1963) folgendes Schema: In Äthernarkose wird eine linksseitige Ureteranschlingung mittels eines Perlonfadens durch die Außenhaut vorgenommen. Nach 24 Stunden erfolgt die intravenöse Injektion einer Bakterienaufschwemmung von mind. $1o^8$ - $1o^9$ Keime pro ml eines Escherichia-coli-Stammes oder eines Klebsiella-Stammes bei noch vorhandener Ligatur. Anschließend werden 5 Minuten lang beide Nieren

massiert. Nach 48 Stunden (gerechnet vom Legen der Ligatur) wird die Ligatur durch einfache Durchtrennung und Herausziehen des Perlonfadens gelöst. Nach 72 Stunden begannen wir frühestens mit der Tetracyclinbehandlung. Das injizierte Volumen der Bakterienaufschwemmung betrug o,3-1 ml.

.2 Die Keimzahlbestimmung

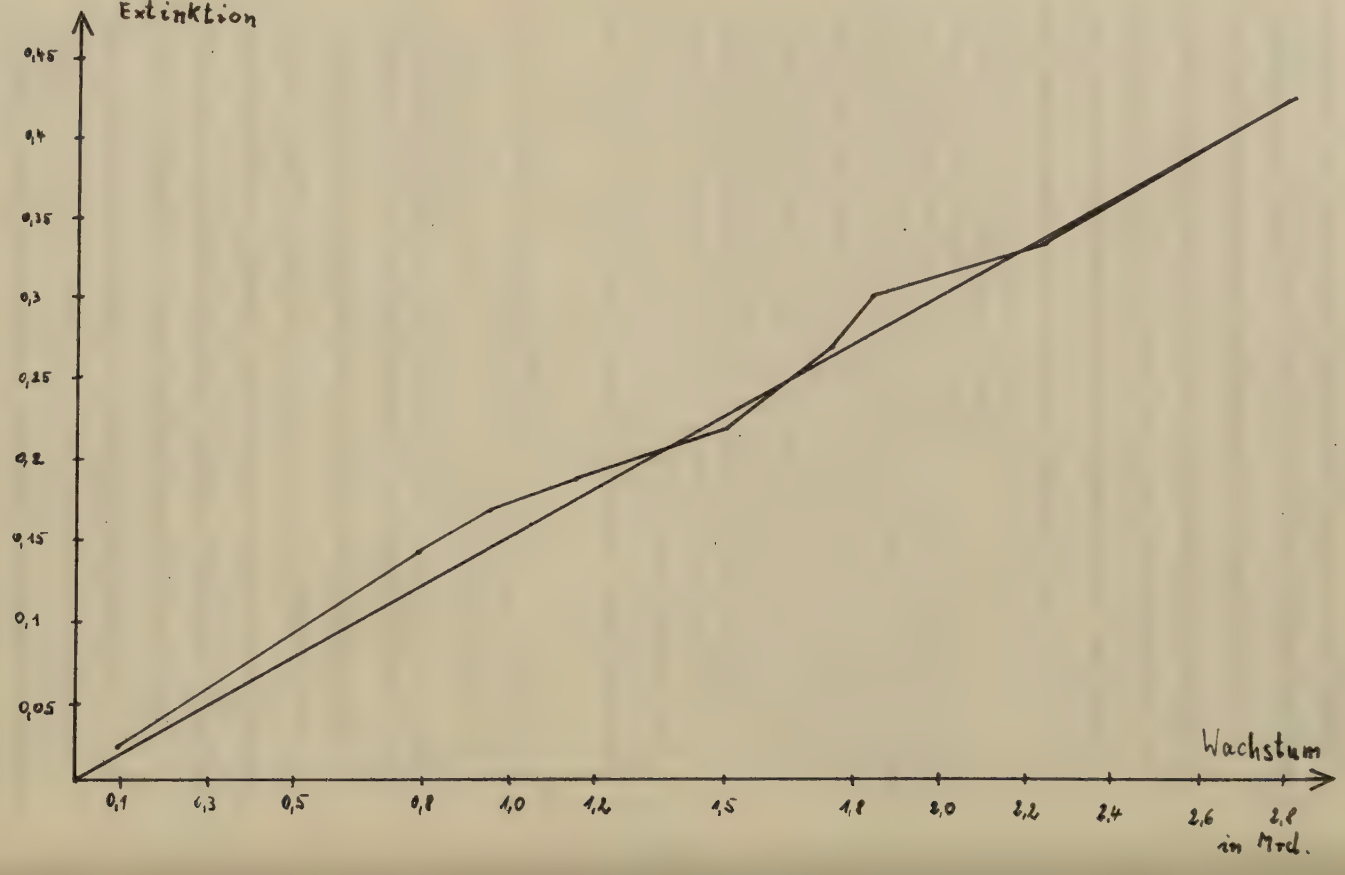
In der Literatur werden unterschiedliche Angaben über die benötigten Keimmengen zur Erzeugung einer Pyelonephritis gemacht. In Vorversuchen stellten wir fest, daß bei Ratten Keimzahlen von $1o^9$ pro ml nötig sind, um eine akute Pyelonephritis zu erzeugen.

Um eine ausreichende Kontrolle über die Keimzahlen zu erhalten, versuchten wir eine Standardisierung zu erzielen. Von einer Schrägagarkultur wurde mit einer ausgeglühten Platinöse eine Überimpfung auf eine Standardbouillon von 3o ml vorgenommen. Die beimpfte Bouillon wurde in ein Wasserbad von 38° C gegeben und durch eine Schüttelmaschine 8o-9o mal pro Minute geschüttelt. Die Bebrütung wurde unterschiedlich lange gewählt. Wir unterbrachen sie nach 4, 8, 12, 18 und 24 Stunden. Danach wurde die Bouillon bei 3ooo Umdrehungen pro Minute 1o Minuten lang zentrifugiert. Der Überstand wurde vorsichtig abgesaugt und der Bodensatz mit 15 ml einer physiologischen Kochsalzlösung aufgeschwemmt. Ein ml der Aufschwemmung wurde in 99 ml o,9 %igen NaCl pipettiert und eine Minute lang geschüttelt, danach erneutes Über-

pipettieren dieser Verdünnung von 1 : 10^{-5} und wieder eine Minute lang Schütteln und so weiter bis zu einer Verdünnung von 10^{-8}. Aus jeder Verdünnung wurden je 3 Gußagarplatten beimpft und 24 Stunden bei 37° C bebrütet. Danach erfolgte die Auszählung der Bakterienkolonien. Es wurden jeweils drei Platten bebrütet, um daraus das arithmetische Mittel zu errechnen.

Parallel zu diesen Verdünnungen stellten wir eine einfache Verdünnungsreihe 1:2, 1:4, 1:8, 1:16 her mit 1 ml der Keimaufschwemmung. Mit einem Eppendorf-Photometer wurde dann eine Trübungsmessung bei einem Filter 436mmy vorgenommen. Die gewonnenen Extinktionswerte setzten wir in Relation zu der Zahl der Keimkolonien bei der Verdünnung von 10^{-7} und erhielten somit eine Eichkurve. Aus dieser Kurve konnten wir die Keimzahlen ablesen und somit sofort die erforderlichen Injektionsmengen festlegen. Auf der Abszisse wurden die Kolonienzahlen und auf der Ordinate die Extinktionswerte aufgetragen. Die Fehlerbreite beträgt $\pm$ 10 %. Die Eichkurve ist auf der Seite 25 abgebildet.

Ob eine Infektion in der Niere und in den ableitenden Harnwegen entstanden war, kontrollierten wir anhand des Urinbefundes. Wir machten stichprobenartige Kammerzählungen der Leukozyten; untersuchten das pH, Protein und Glukose mit den Comburteststreifen, außerdem wurde ein Urinsediment angefertigt. Zur Gewinnung des Urins wurden die Tiere währenddessen in Stoffwechselkäfigen gehalten. Zum Vergleich wurde der Urin von gesunden


Extinktion
0,45
0,4
0,35
0,3
0,25
0,2
0,15
0,1
0,05
Wachstum
0,1
0,3
0,5
0,8
1,0
1,2
1,5
1,8
2,0
2,2
2,4
2,6
2,8
in Mrd.

Kontrolltieren untersucht. Wir kamen zu folgenden Normalwerten.

Die Kammerzählung wurde in einer Fuchs-Rosenthal-Kammer durchgeführt. Eine Leukozyturie bis zu 1ooo Drittelzellen kann als normal angesehen werden. Erythrozyten traten nur ganz vereinzelt auf. Glukose war immer negativ, Protein kann in Spuren vorhanden sein, das Urin pH war überwiegend sauer, zwischen 5 und 6. Im Sediment fanden sich Epithelien, Harnsäurekristalle und amorphe Salze.

5.3 Die Applikation der Tetracycline

Die Normdosis für Oxytetracyclin beträgt beim Erwachsenen 4,o - 7,5 mg pro kg Körpergewicht und Tag. PRAT, HATALA und BENESOVA (1965) verwendeten für therapeutische Versuche bei Kaninchen 15 mg pro kg Körpergewicht. MALEK und Mitarbeiter (1963) haben für Fluoreszenzuntersuchungen 1o mg pro kg Körpergewicht gegeben. TAPP, CARROLL und KOVAC (1965) applizierten sogar 15o mg pro kg Körpergewicht, eine Dosis, die für Ratten an der Grenze der letalen Dosis liegt.

Wir verabreichten bei den vorliegenden Versuchen 1oo bis 12o mg pro kg Körpergewicht und Einzeldosis. Bei der Applikation niedriger Dosen ist die Fluoreszenz der Gewebsstrukturen so gering, daß photographische Aufnahmen nur bei Verwendung von Nativschnitten und nur bei stärkerer Vergrößerung möglich sind. Bei Gefriertrockenschnitten ist in diesen Fällen nur in einzelnen Sammel-

rohren eine Gelbfluoreszenz nachzuweisen. Eine pathologische Anreicherung von Tetracyclinen unter erhöhten Dosen konnte in bestimmten Gewebsanteilen nicht nachgewiesen werden (siehe auch BÖTTIGER 1955). Das Tetracyclin wurde den Tieren intraperitoneal in Abständen von 6 bis 8 Stunden injiziert. Die injizierte Menge betrug zwischen o,5 und 1 ml. Die Behandlungsdauer schwankte zwischen einigen Stunden bis zu 6 Tagen.

Jeweils 15 Minuten vor Tötung der Tiere und Herausnahme der Nieren wurden zwischen o,1 bis o,8 ml eines Tetracyclins in die Schwanzvene injiziert.

6. Untersuchungstechnik

Die Herausnahme der Nieren erfolgte beim noch lebenden Tiere in Äthernarkose. Wir setzten zwei Klemmen an den Nierengefäßstiel und an den Ureter und durchtrennten zwischen beiden Klemmen die Gefäße. Die Klemmen sollten ein Ausbluten der Niere verhindern. Wir entfernten immer die linke Niere zuerst. Die zentrale Gefäßklemme hatte den Zweck, bis zur Entnahme der rechten Niere das Tier noch am Leben zu erhalten und ein Verbluten des Tieres zu verhindern. Sofort nach Entnahme der jeweiligen Niere wurden bei liegender Klemme am Gefäßstiel 2-3 mm dicke Querschnitte aus der Niere mit einer Rasierklinge exzidiert und unmittelbar in einem Gemisch von Propan und Isopentan bei minus 180° C eingefroren.

Die eingefrorenen Nierenschnitte kamen in eine Gefriertrocknungsanlage nach Leibold und wurden 8 Tage lang gefriergetrocknet. Anschließend wurden die Gewebsanteile im Vacuum bei 45° C in ein Gemisch von Stearin, Paraffin und Cerum Album im Verhältnis 1 : 3 : 2 (nach KULENKAMPFF) eingebettet. Da die Tetracycline in organischen Lösungsmitteln, mit Ausnahme einzelner Alkohole, wie Äthanol, Methanol und auch Azeton, unlöslich sind, ist bei einer Paraffineinbettung der Schnitte mit einer Substanzverschiebung nicht zu rechnen (REGNA und SOLOMONS 1950). Bei der Eindeckung der Schnitte in Entelan mit Xylol läßt dieses Paraffingemisch keine Eigenfluoreszenz erkennen.

Die nativen Gefrierschnitte wurden mit einem Kryostaten bei minus 25° C hergestellt. Als Eindeckungsmittel benutzten wir Karion F, eine wässrige, visköse Lösung eines hoch polymeren Zuckers. Bei der Eindeckung ist darauf zu achten, daß sie luftblasenarm durchgeführt wird, bei der Mikroskopie ergeben die Luftblasen störende Ringschatten.

Bei dieser Methode wird jedoch das im Tubuluslumen befindliche Tetracyclin herausgelöst, beziehungsweise weggespült, während das im Gewebe befindliche Tetracyclin liegen bleibt. Der Grund hierfür ist die unterschiedliche Löslichkeit des freien Tetracyclins und seiner Salze. Im lebenden Gewebe liegen die Tetracycline möglicherweise als freie Base vor und sind unlöslich, während die im Tubulus befindlichen Tetracyclinsalze

wasserlöslich sind (REGNA und SOLOMONS 1950). Die Löslichkeit ist abhängig von dem verschiedenen pH des Gewebes und des Tubuluslumens.

Eine erheblich geringere Fluoreszenz fanden wir bei Eindeckung mit physiologischer Kochsalzlösung, da hier der Brechungsindex sehr viel niedriger ist. Außerdem kam es zu schnelleren autolytischen Veränderungen der Schnitte bei Belichtung.

Da das Tetracyclin in Karion F löslich ist, können in die angrenzenden Gebiete der Tubuluslumina vermehrt Tetracycline diffundieren. Bei gleichzeitigem Nebeneinandereindecken von Nierengewebsschnitten eines stark überdosierten Tieres und eines unbehandelten Tieres konnten wir eine gewisse Aufnahme von fluoreszierendem Tetracyclin im angrenzenden Gebiet des tetracyclinfreien Schnittes feststellen.

Die Nachteile von Karion F sind das schon erwähnte Herauslösen der Tetracycline, die Bildung von Luftblasen und die relativ kurze Haltbarkeit der Schnitte von etwa 2-5 Stunden. Danach kommt es zu autolytischen Erscheinungen mit Eigenfluoreszenz.

7. Photographische Technik

Die Untersuchungen und Photographien wurden mit dem "Großen Fluoreszenzmikroskop" von der Firma Zeiss durchgeführt. Als Lichtquelle stand eine Quecksilberhöchst-

drucklampe (HBO 2oo Watt) zur Verfügung. Die Erregerfilter bildeten ein BG 38/2,5 mm zur Rotdämpfung zusammen mit einem BG 12/4 mm, mit einem Durchlaßmaximum von 4oo nm. Sie wurden mit den Sperrfiltern 53o nm und 44o nm kombiniert. Die stärkeren Vergrößerungen, beziehungsweise stärker fluoreszierenden Präparate, wurden mit der eingebauten Kamera und Automatic aufgenommen. Durch verschiedene Umlenkungen des Strahlenganges wird für diese Aufnahmen sehr viel Lichtenergie verbraucht, so daß für Übersichten (Objektiv 2,5 und 6,3) bei schwacher Fluoreszenz häufig eine Aufsatzkamera im direkten Strahlengang zur Anwendung kam. Die Belichtungszeiten unter "Normdosen" lagen für einen Kodak Tri X Pan 27° DIN-Film in der eingebauten Kamera zwischen 1o und 4o Minuten, je nach Fluoreszenzintensität und Objektiv, während im direkten Strahlengang mit einer Aufsatzkamera nur ein Drittel der obigen Zeiten erforderlich war. Die Lichtintensität war jedoch bei den kleinen Objektiven zum Teil so gering, daß eine Scharfeinstellung im direkten Strahlengang nicht mehr gelang. Um ein Verbrennen der Präparate zu vermeiden, mußte bei sehr schwacher Fluoreszenz ein sehr hoch empfindlicher Film Ilford-HPS (3o° DIN) verwendet werden.

Die Buntaufnahmen der gefriergetrockneten Präparate erfolgten mit einem Kodak Ektachrome " High Speed" Tageslichtfilm (23° DIN), mit der Fluoreszenzeinrichtung der Firma Leitz und der zugehörigen Belichtungsautomatik. Hierbei standen als Erregerfilter je ein BG 1/2 mm und 4 mm sowie ein BG 12/4 mm im Strahlengang. Als Sperr-

filter wurde ein Euphos 2,5 mm benutzt. Die Belichtungszeiten lagen dabei zwischen 2 und 5 Minuten. Die Eigenfluoreszenz war durch den größeren langwelligen Lichtanteil grün betont im Gegensatz zur dunkleren blaugrünen Eigenfluoreszenz bei der Kombination der Erregerfilter BG 38/2,5 mm und BG 12/4 mm im Zeissfluoreszenzmikroskop.

8. Ergebnisse und Befunde

Nach BRAUS werden auf Querschnitten von Nieren histologisch mehrere Streifen und Zonen unterschieden. Schon mit bloßem Auge ist die Rinde vom Mark deutlich zu unterscheiden. Im Mark werden eine Außen- und eine Innenzone unterschieden. Die Außenzone teilt man ein in einen Außen- und einen Innenstreifen, so daß sich von peripher nach medial folgende Einteilung ergibt:

Die Rinde reicht von der Nierenkapsel bis zu den juxtamedullären Glomerula. Es folgt der Außenstreifen der Außenzone, und danach schließt sich der Innenstreifen der Außenzone an. Den Abschluß bildet die Innenzone als der eigentliche Markkegel mit der Papille.

8.1 Unbehandelte Kontrolltiere

Das normale Nierengewebe zeigt bei der obigen Filterkombination, auch ohne Zusatz irgendwelcher fluoreszierender Stoffe, eine grüne bis blaugrüne Eigenfluoreszenz. Die Farbe der Fluoreszenz ist abhängig von der

Wahl der Erreger- und Sperrfilter am Mikroskop. Die Fluoreszenz geht aus vom Protoplasma der Tubuluszellen und von den Zellen des Bindegewebes. Die Zellkerne erscheinen dunkelblau bis schwarz. An der Basis der Hauptstückzellen ist eine feine gelb bis gelblichweiße Körnelung zu erkennen (siehe auch SJÖSTRAND 1944). Sie erscheint sowohl bei Gefrier- als auch bei Nativschnitten. Die elastischen Fasern der Blutgefäße haben eine starke gelbe Eigenfluoreszenz. Die Glomerula zeigen geringe grüne Fluoreszenz (siehe Abbildung 1, 2).

8.2 Behandelte Kontrolltiere

Bereits kurz nach der Gabe von 15 mg/kg KG OTC zeigen die Epithelien der Hauptstücke und Mittelstücke in der Nierenrinde eine diffuse gelbliche Eigenfluoreszenz unter Aussparung der Zellkerne. Außerdem fiel eine intensive apikale Gelbfluoreszenz der Hauptstückepithelien vorwiegend in den Pars recta der Tubuli, also der Bürstensäume auf (Abb. 3, 4).
Sie läßt sich sowohl bei den nativen als auch bei den gefriergetrockneten Präparaten erkennen. Auf den Übersichtsaufnahmen ergibt diese Fluoreszenz in den Pars recta der Hauptstückepithelien ein charakteristisches Verteilungsbild mit einer Betonung des Außenstreifens der Außenzone des Markes und der Markstrahlen zur Rinde. Die Pars contorti zeigen nur eine sehr diffuse Fluoreszenz (Abb. 5, 6, 7).

Bei Nagetieren wird das Oxytetracyclin tubulär sezerniert. Fremdsubstanzen, wie auch Antibiotika, werden in den distalen Anteilen der Hauptstücke, also in den Pars recta, ausgeschieden. Die beschriebene Fluoreszenzverteilung könnte als Zeichen der Sekretion zu werten sein.

Im Vergleich zum Oxytetracyclin zeigt das Chlortetracyclin, das beim Menschen und beim Hund nur zu 18 % renal eliminiert wird, nur eine schwache Anreicherung in den proximalen Tubuli. Bei einer Dosis von 1oo mg pro kg KG lassen dagegen die Sammelrohre, insbesondere in der Markpapille, intensive CTC-Niederschläge erkennen. Die apikale Fluoreszenz der Tubuluszellen der Pars recta fehlt (Abb. 8, 9, 1o).
In der Innenzone des Nierenmarkes, der Markpapille, wird bei der niedrigen Dosierung nur in einem Teil wechselnd ausgeprägt, Oxytetracyclin sichtbar, meist den Tubuluszellen anliegend. Bei einer Dosis von 12o mg pro kg KG OTC leuchten fast alle Sammelrohrlumina intensiv gelb auf. Die Tubuluszellen lassen durch die Überstrahlung keine Beurteilung zu. Bei den Nativschnitten ist der Inhalt der Lumina herausgelöst. Der Markkegel, die gesamte Innenzone, zeigt keine wesentliche Fluoreszenz (Abb. 9). Nur bei stärkerer Vergrößerung treten die Epithelien der Sammelrohre deutlich hervor. Das Interstitium zeigt sowohl bei OTC als auch bei CTC im wesentlichen eine normale Eigenfluoreszenz. Auf einzelnen Bildern erscheint das Interstitium insbesondere in der Innenzone heller, ein Befund, der durch Über-

strahlung der starken Fluoreszenz des Tubulusinhaltes zu werten ist.

8.3 Behandelte Kontrolltiere mit einer Diodrastblockade

Bei 3 Tieren wurde versucht, die Oxytetracyclinausscheidung durch Diodrast zu blockieren.
Es wurden 2.25 g/kg KG Diodrast injiziert, 15 Minuten danach wurden die Tiere getötet. Diese hohen Dosen verursachten eine stärkere osmotische Diurese, erkennbar im histologischen Bild an den weiten Tubuli. Die Eigenfluoreszenz nimmt im Außenstreifen zu. Die nachfolgende Injektion von 50 mg/kg OTC führt nur zu einer ganz geringen Gelbfluoreszenz in den Zellen der Pars recta der Hauptstückepithelien (Abb. 11).

Die sonst sehr intensive Fluoreszenz in den Pars recta der Hauptstücke fehlt, was als Zeichen einer Blockade der Sekretion und auch der erhöhten Diurese aufzufassen ist. Offenbar ist die Oxytetracyclinmenge, die durch Filtration ausgeschieden wird, zu gering, um bei der fehlenden Urinkonzentrierung unter Diodrast eine Fluoreszenz in den Lumina zu erzeugen.

Im Gefrierschnitt ist neben einer verstärkten Eigenfluoreszenz nur eine schwache Fluoreszenz der Bürstensäume zu erkennen.

8.4 Behandelte Tiere mit Pyelonephritis

Sobald interstitielle Infiltrate in der Niere auftreten, ändert sich das histologische Bild der Fluoreszenzverteilung und auch der Fluoreszenzintensität. Zwischen dem erhaltenen Gewebe, das eine typische Fluoreszenz hat, sind straßenförmig angeordnete Streifen vorhanden, die dunkel erscheinen. Die den Infiltrationen benachbarten Tubuli haben flache Epithelien mit einer erheblich geringeren OTC-Fluoreszenz als die noch mit höherem Epithel ausgekleideten Kanälchen (Abb. 12).

Die entzündlichen Infiltrationen weisen bei den gefriergetrockneten Schnitten eine grüne Eigenfluoreszenz auf, während sie bei den nativen Präparaten eine gelblich graue Färbung haben, die intensiver als im Fettgewebe oder im Bindegewebe der Gefäßbündel ist. Die apikale Fluoreszenzbetonung der Hauptstücke fehlt in den entzündlichen Herden. In den Lumina der erweiterten Tubuli ist mit Ausnahme geringer wandständiger Niederschläge in einzelnen Sammelrohren keine Fluoreszenz nachzuweisen (Abb. 12, 13, 14).

Bei ganz schweren pyelonephritischen Veränderungen ist sowohl bei den gefriergetrockneten als auch bei den nativen Schnitten keine wesentliche Fluoreszenz in den betroffenen Gebieten zu erkennen. Die Markpapille sowie die Leukozytenzylinder in den Sammelrohren haben dunkelgrüne Eigenfluoreszenz, auch nach einer mehrtägigen Vorbehandlung mit relativ hohen Dosen.
Auf der Abb. 15 fällt die deutlich intensivere

Fluoreszenz des Blutes einer größeren Vene im Vergleich zu dem umgebenden Gewebe auf.

Sind an Stelle der interstitiellen streifenförmigen Infiltrationen mehr Nierenrindenabszesse vorhanden, so bietet sich ein anderes Bild. Diese Rindenabszesse, die nach hämatogener E. coli-Infektion und Nierenmassage entstanden waren, zeigten eine intensive Gelbfluoreszenz im Zentrum der Nekrose (Abb. 16). Der um den Abszess gebildete entzündliche aus Granulationsgewebe bestehende Randwall erscheint, im Vergleich zu den erhaltenen Tubuli, dunkel.
Stellenweise sind schollige, heller erscheinende Partikel im Randwall sichtbar. Sie finden sich auch bei unbehandelten Tieren.

In ischämischen Infarkten, hervorgerufen durch Unterbindung und Koagulation, konnte auch nach längerer Behandlung mit Oxytetracyclin keine Fluoreszenz nachgewiesen werden (Abb. 17, 18).

3.) Behandelte Tiere mit Pyelonephritis und Harnstauung

Bei Harnabflußbehinderungen und gleichzeitiger Pyelonephritis entspricht die Fluoreszenzverteilung in der Nierenrinde den bereits bei der interstitiellen Nephritis beschriebenen Veränderungen. Mit zunehmender Abflachung der Tubuluszellen und Funktionseinbuße wird die Anreicherung von OTC in den Epithelien immer geringer.

Bei einer 8–1o Tage alten inkompletten Stauung zeigte die Innenzone, im Gegensatz zu den regelrechten Nieren, eine sehr intensive Fluoreszenz. Bei den Nativschnitten ist das intratubulär konzentrierte OTC post mortal in das Gewebe abdiffundiert (Abb. 19, 2o).

Bei schweren Harnstauungsnieren im Sinne einer Hydronephrose ist bei den gefriergetrockneten Schnitten nur noch eine minimale diffuse Anreicherung fluoreszierender Substanz in der Nierenrinde zu erkennen. Das Mark, insbesondere die Innenzone, tritt nur noch durch eine Eigenfluoreszenz hervor. Die Tubuluslumina bleiben dunkel (Abb. 21). In den Nativschnitten ist jedoch noch eine deutliche OTC-Fluoreszenz der flachen Tubulusepithelien der Nierenrinde nachzuweisen (Abb. 22).

9. Zusammenfassung der eigenen Befunde

Fluoreszenzmikroskopisch wurde die Tetracyclinverteilung in regelrechtem Nierengewebe und bei einer bakteriellen interstitiellen Nephritis bei der Ratte untersucht.

Die Oxytetracyclindosen mußten um das Zehnfache erhöht werden, um eine mikroskopisch nachweisbare und photographisch dokumentierbare Fluoreszenz zu erreichen. Im regelrechten Nierengewebe fand sich die Fluoreszenz vorwiegend in den proximalen Tubuli, nämlich apikal in den Pars recta der Hauptstückepithelien, dem Ort der

aktiven Ausscheidung von Fremdsubstanzen.

Außerdem war eine starke Anreicherung innerhalb der Sammelrohre zu finden. Weniger stark ausgeprägt war die Fluoreszenz in den Schaltstücken.
Die Epithelien der Sammelrohre und der Henleschen Schleife traten kaum in Erscheinung. Das Interstitium, insbesondere das Nierenmark, ließ keine Tetracyclinfluoreszenz, sondern lediglich eine grüne Eigenfluoreszenz erkennen.

Bei Nagetieren war bekannt, daß die Tetracycline in den proximalen Tubuli aktiv sezerniert werden. Die intensive Fluoreszenz dieser Abschnitte könnte dem Befund entsprechen. Zur Kontrolle wurde deshalb eine Blockade der Sekretion mit Diodrast versucht. Als Folge der Sekretionsblockade fehlte die typische Fluoreszenz der Hauptstückepithelien in den Pars recta. Das durch Filtration ausgeschiedene und durch die erhöhte Diurese verdünnte OTC führte nur zu geringer Gelbfluoreszenz in den Tubuluszellen. Die Sammelrohre waren mikroskopisch leer.

In entzündlichen Infiltrationen, entstanden durch die hämatogene, interstitielle Nephritis nach Injektion einer E.coli-Suspension, war die Oxytetracyclinfluoreszenz wesentlich geringer, bedingt durch den Funktionsausfall der Nephren. Die Sammelrohre in den intakten Bezirken enthielten Oxytetracyclin.

Die Nekrosen in Abszessen zeigten eine zentrale, intensive Fluoreszenz, während das entzündliche Granulationsgewebe

keine Fluoreszenz aufwies.

1o. Diskussion

Die Niere ist das wichtigste Ausscheidungsorgan für Fremdsubstanzen und damit auch für Chemotherapeutika. Sie werden, entsprechend ihren physikalisch-chemischen Eigenschaften, in wechselndem Umfang in der Niere filtriert, filtriert und sezerniert und unterliegen zum Teil einer passiven Rückdiffusion, seltener einer aktiven Rückresorption.

Die Rückdiffusion im distalen Tubulus hängt in erster Linie von der Lipoidlöslichkeit einer Substanz und von ihrer Säuredissoziationskonstanten ab. Die Ausscheidung schwacher organischer Säuren nimmt mit steigender Wasserstoffionenkonzentration im Tubulusinhalt ab und mit steigendem pH zu, bewiesen zum Beispiel für Nitrofurantoin. Im sauren Urin wird eine schwache Säure, entsprechend dem Gefälle ihres nicht ionisierten Anteils zur Umgebung, aus dem Tubuluslumen in die benachbarten Kapillaren zurückdiffundieren. Ob diese Rückdiffusion zu einer Erhöhung der Substanzkonzentrationen in der interstitiellen Flüssigkeit der Niere führt, ist unwahrscheinlich. HUBMANN (1967) konnte im Gegensatz zu COCKETT, ROBERTS und MOORE (1965) nachweisen, daß in Harnstauungsnieren bei Hunden unter Clearancebedingungen keine Erhöhung der Lymphkon-

zentration der Kapsel- und Hiluslymphe für Nitrofurantoin bestand. Die Lymphkonzentration entsprach immer der Plasmakonzentration. Der hohe Blutstrom sorgt vermutlich im Vergleich zu dem geringen interstitiellen Flüssigkeitsdurchfluß für eine dauernde Aufrechterhaltung des Milieu intern.

Bei unseren histologischen Untersuchungen sahen wir eine intensive Gelbfluoreszenz in den Lumina der Hauptstücke und der Sammelrohre. Die Zellen der Hauptstücke, besonders der Pars recta, zeigten ebenfalls eine deutliche Fluoreszenz. Die Epithelien der Schleifenanteile und der Sammelrohre nahmen nach unseren histologischen Befunden nur wenig Tetracyclin auf. Über das Interstitium sind anhand unserer Untersuchungen keine Aussagen möglich. Mikroskopisch war keine Tetracyclinfluoreszenz zu erkennen.
Bei einer floriden, bakteriellen, interstitiellen Nephritis ist die Ausscheidungsfunktion der betroffenen Bezirke und bei diffuser Ausbreitung der ganzen Niere erheblich eingeschränkt. Bereits im Frühstadium ist die Urinkonzentrierung herabgesetzt, mit fortschreitender Destruktion fällt die tubuläre Sekretion aus, so daß die Niere nur noch über eine Filtrationsdiurese arbeitet, bis auch diese zum Erliegen kommt (DOMADIAN, SHWAYRI und BRICKER 1965). Das morphologische Substrat sind leukolymphozytäre Infiltrationen, interstitielle Bindegewebsvermehrung und weite Tubuli mit flachen Epithelien. Zum Teil sind die Tubuli untergegangen.

Histologisch findet sich stellenweise in den flachen Epithelien der weiten Tubuli innerhalb der interstitiellen Infiltrationen noch eine geringe Oxytetracyclinanreicherung. Diese Bedingungen gelten sowohl für die diffus veränderten Nieren als auch für kleinere interstitielle Infiltrationen.

MALEK, ZASTAVA, ZAK, KOCVARA und KOLC (1963) berichteten bei ihren Auflichtuntersuchungen, daß sich Oxytetracyclin und Chlortetracyclin unterschiedlich in ihrer Verteilung in der Niere verhalten. Chlortetracyclin fluoreszierte mehr in der Rinde, wogegen Oxytetracyclin vorwiegend in der Markpapille aufzufinden war. Diesen Befund griffen PRAT, HATALA und BENESOVA (1965) auf und behandelten infizierte Kaninchen mit niedrigen Dosen CTC. Sie kamen damals zu dem Schluß, daß CTC für eine Therapie der Pyelonephritis ungeeigneter sei als OTC.

Bei unseren fluoreszenzmikroskopischen Untersuchungen war zu erkennen, daß die intensive OTC-Fluoreszenz in der Markpapille der Niere, die von MALEK und Mitarbeitern (1963) gefunden wurde, durch eine elektive Konzentrierung der Tetracycline in den Sammelrohrlumina entsteht. Die Eigenfluoreszenz im Interstitium des Markkegels wird dadurch nicht wesentlich verändert. Es ist somit nicht möglich, von diesen Befunden oder aus der Urinkonzentration des Nierenbeckens auf die Chemotherapeutikumkonzentration im Interstitium des Nierenmarkes zu schließen und daraus therapeutische Folgerungen zu ziehen, wie es von PRAT, HATALA und BENESOVA (1965) sowie STAMEY, GOVAN und PALMER (1965)

erfolgte. Auch für CTC, das nur 18 % renal eliminiert wird, ist unter extrem hoher Dosierung eine intensive Fluoreszenz in den Sammelrohren der Markpapille zu erzeugen. Der schlechtere therapeutische Erfolg von CTC im Tierversuch der Autoren lag im wesentlichen an der kürzeren Serumhalbwertszeit.

Die Anreicherung von OTC in den Epithelien der Pars recta der Hauptstücke kann als ein Zeichen der Sekretion gewertet werden. Daß es sich um eine aktive Leistung der Zellen handelt, kann durch eine Blockade der Ausscheidung mit Diodrast vermutet werden. Die sonst sehr intensive Fluoreszenz in den Pars recta der Hauptstücke fehlt .

Für OTC ließ sich histologisch eine stärkere Anreicherung im Zentrum von Abszessen nachweisen, während das umgebende Granulationsgewebe dunkel blieb. Diese Anlagerung an denaturiertes Eiweiß ist irreversibel und geht außerdem mit dem Verlust der antibakteriellen Wirkung einher.

Die von MALEK, ZASTAVA, ZAK, KOCVARA und KOLC (1965) beschriebene Fluoreszenz von OTC um Staphylokokkenabszesse sahen wir nicht, allerdings waren die Abszesse nach Injektion mit E.coli entstanden. Ebenso konnten wir die Tetracyclinfluoreszenz in ischämischen Bezirken, wie sie von TAPP, CARROLL und KOVACS (1964) erwähnt wurden, trotz mehrere Tage durchgeführter Tetracyclinbehandlung nicht bestätigen. Jedoch waren die nekrotischen Bezirke bei den Untersuchungen von TAPP und Mitarbeitern sehr viel kleiner.

10.1 Schlußfolgerungen für die Therapie der Pyelonephritis

In den durch interstitielle Infiltrationen veränderten Nierenbezirken ist die intratubuläre Konzentrierung der Chemotherapeutika gestört. In den Zentren der Infiltrationsbezirke sistiert auch die Filtration der Nephren, so daß kein Konzentrationsgefälle für die Chemotherapeutika vom Tubuluslumen zum Interstitium mehr entsteht. Die hohen Substanzkonzentrationen im Nierenmark bleiben isoliert auf das Tubuluslumen (Urin) beschränkt. Es ist daher sinnvoll, die Therapie einer floriden interstitiellen Nephritis nur mit Chemotherapeutika durchzuführen, die ausreichende Serumkonzentrationen erreichen.

Die Urinkonzentration eines Antibiotikums ist für die Behandlung der Pyelonephritis unwesentlich.

11. Zusammenfassung

An 6o Ratten eines Wistar-Inzuchtstammes wurde die Tetracyclinverteilung in regelrechtem und in pyelonephritisch verändertem Gewebe der Niere untersucht. Die Untersuchungen wurden mit der Methode der Fluoreszenzmikroskopie durchgeführt. Die Pyelonephritis wurde, modifiziert, nach der Methode von PRAT und BENESOVA (1963) erzeugt.

Im normalen Nierengewebe fand sich Oxytetracyclin in den Pars recta der Hauptstückepithelien und in den Lumina der Sammelrohre in der Markpapille. Die Sekretion von OTC kann durch Diodrast gehemmt werden.

In den pyelonephritischen Infiltrationen war eine wesentlich geringere Fluoreszenz vorhanden, bedingt durch den Funktionsausfall der betroffenen Nephren. Das Gewebe behielt seine normale Eigenfluoreszenz. Bei der Hydronephrose war nur eine ganz geringe Fluoreszenz sichtbar. Es wurden keine Unterschiede zwischen Oxy- und Chlortetracyclin entsprechend ihren renalen Ausscheidungsmechanismen festgestellt.

Es wird gefolgert, daß für die Therapie der Pyelonephritis die Serumkonzentrationen eines Antibiotikums maßgebend sind.

12. Photographische Abbildungen

Abb. 1

Eigenfluoreszenz (Fl.) der Niere nach Gefriertrocknung. Weiße bis gelbliche Körnelung basal in den Hauptstückepithelien. Technik für die Buntaufnahmen: Gefriertrocknung, Leitz Fluoreszenzeinrichtung Ektachrome H.S. 23° DIN, Filter s. Text. (Tier 34, Belichtg 4,5 Min., Vergr. 160fach)

Abb. 2

Eigenfl. des nativen Gefrierschnittes einer Rattenniere. Feinkörnige Fl. vorwiegend in den Hauptstücken, Glomerula dunkel. Typische Fl. der Elastica interna einer Art. interlobaris. Technik: Gefrierschn. 1o my, Karion-F-Eindeckung, Zeiß Fluoreszenzmikroskop. (Tier 34, Adox KB 17, Bel. 16 Min. im direkten Strahlengang, Vergr. 6oofach)

Abb. 3

Juxtamedulläre Rindenzone. Tetracyclinfl. 2 Min. nach i.v.-Injektion von 15 mg/kg OTC. Homogene Fl. der gesamten Tubuluszellen mit apikaler Fl.-Anhäufung in den Hauptstücken unter Aussparung der Zellkerne. Glomerula ohne Fl. Vereinzelt feinkörnige, helle Eigenfl. basal in den Hauptzellen. Technik: s.o. (Tier 35 re., Adox KB 17, Bel. 8 Min. Vergr. 200fach)

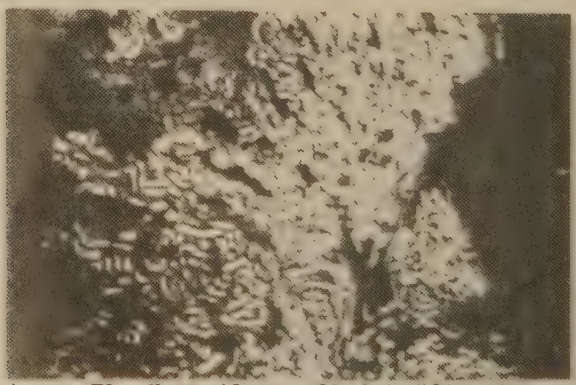


Abb. 4

Typiscne Fl.-Verteilung. Gleichmäßige Fl. der Tubuluszellen im Rindenbereich. Starke apikale OTC-Anhäufung im Außenstreifen der Außenzone des Markes, während im Innenstreifen nur die Mittelstücke stärker fluoreszieren. Die Innenzone, der Markkegel weisen nur eine ganz geringe Fl. der Sammelrohrzellen auf (äußerer Bildrd.). Dosis 25 mg/kg intraperitoneal 3 Std. zuvor. (Tier 9 re., Ilford HPS, Bel. 0,5 Min. Vergr. 30fach)

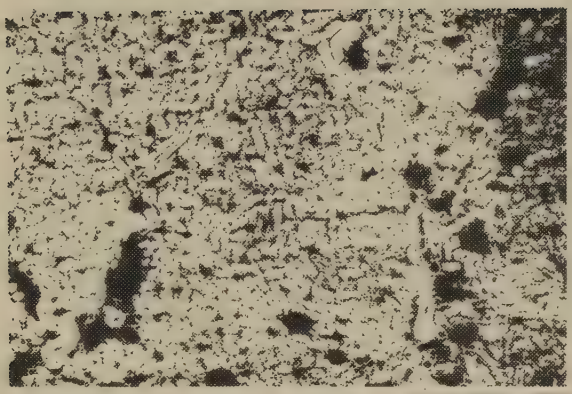


Abb. 5

Übergang von der juxtamedullären Rindenzone (Bildrand rechts, links und unten) zum Außenstreifen der Außenzone des Markes. (Bildmitte und Oberrand). Erhebliche Zunahme der apikalen Fl. in den Tubuli des Außenstreifens. Dosis 150 mg/kg OTC. (Tier 35 li., Kodak Tri X Pan, Bel. 3 Min., Vergr. 30fach)

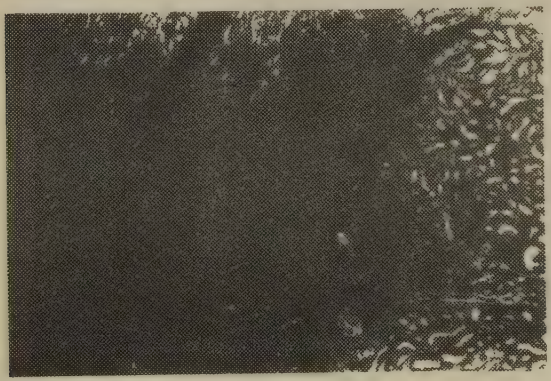


Abb. 6

Außenstreifen (oberer Bildrand) und Innenstreifen (Bildmitte und rechts unten) sowie Innenzone (Markpapille, links unten) des Nierenmarkes. Die intensive Fl. der Markpapille findet sich in den Sammelrohrlumina. (Tier 54 li., Bel. 1 Min., Vergr. 40fach)

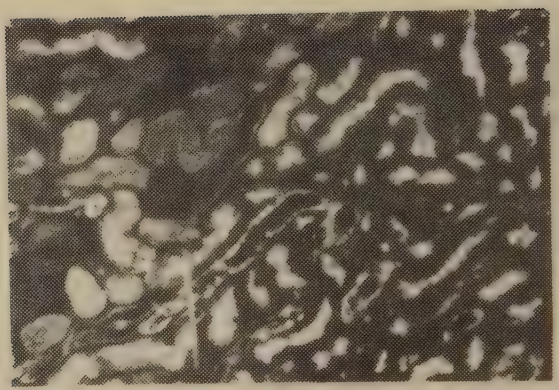


Abb. 7

Juxtamedulläre Rindenzone 2o Min. nach i.v.-Injektion von 15o mg/kg OTC. Starke Fl. apikal und im Lumen der Pars recta der Hauptstücke und Sammelrohre. (Tier 35 li., Bel. o,5 Min., Vergr. 160fach)

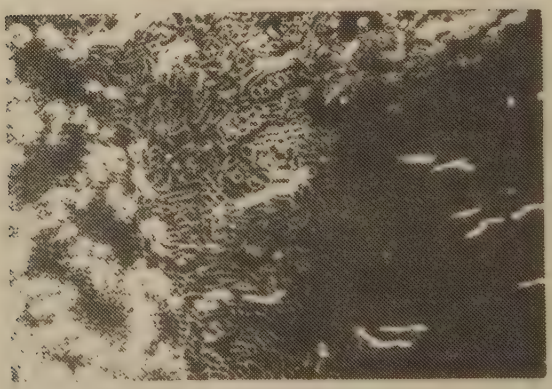


Abb. 8

Starke OTC-Anreicherung in den Sammelrohren bei einer funktionellen Einzelniere nach Ureterunterbindung der kollateralen Niere 2o Min. nach i.v.-Injektion von 12o mg/kg.
Weite Tubuli durch starke Diurese. Geringe apikale Fl. in den Pars recta der Hauptstückepithelien. Markkegel li. im Bild. (Tier 45 re., Bel. 5 Min., Vergr. 4Ofach)

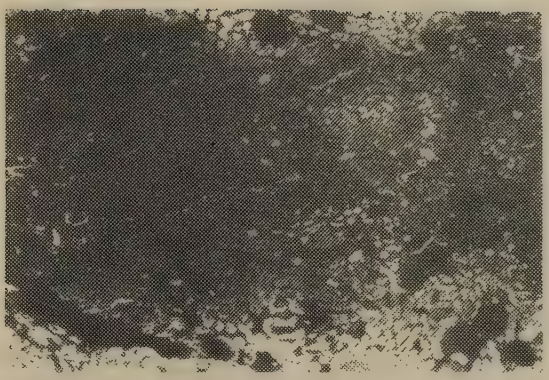


Abb. 9

Die Ausscheidung von OTC in der Niere. Rinden-Markgrenze. Nur geringe Zunahme der Fl. der Hauptstücke. Stärkere OTC-Fl. in den Sammelrohren. Dosis 1oo mg/kg, 1o Min. nach i.v.-Injektion. (Tier 53, Bel. 4 Min., Vergr. 4Ofach)

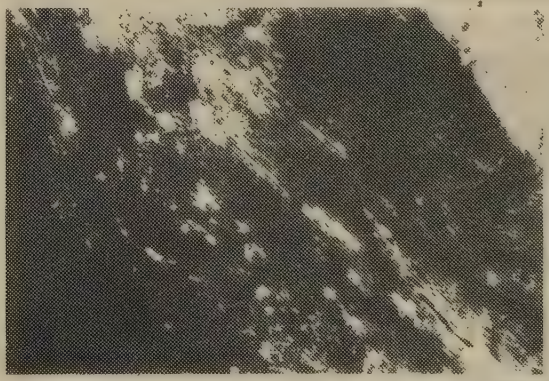


Abb. 10

Markpapille. Intensive Chlortetracyclinfl. in dem Lumina der Sammelrohre. (Tier 53, Bel. 3 Min., Vergr. 4Ofach)

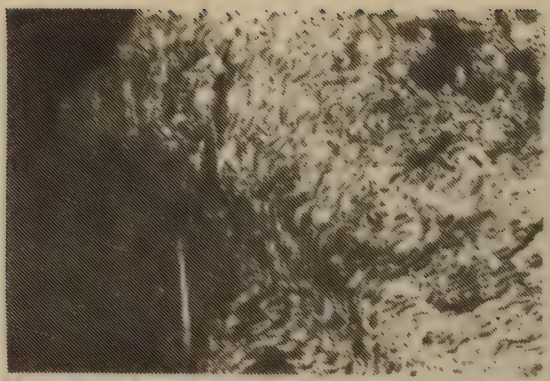
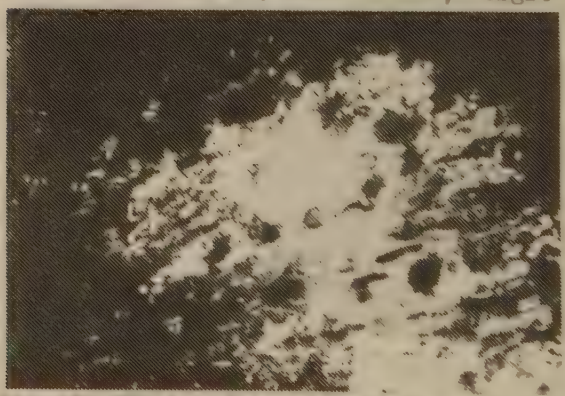


Abb. 11

Blockade der tubulären OTC-Ausscheidung durch Diodrast. Entnahme der Niere 25 Min. nach Gabe von 2,25 mg/kg Diodrast und 15 Min. nach Injektion von 5o mg/kg OTC. Übersicht eines Nierenquerschnittes von der juxtamedullären Rindenzone (rechts oben) bis zum Markkegel (links unten). Nur geringe OTC-Fl. in den Hauptstückepithelien. Deutliche Zunahme der Grün-Fl. im Außenstreifen des Markes möglicherweise durch Diodrast. (Tier 5o, Bel. 4 Min., Vergr. 4Ofach)



Ab. 12

Streifenförmige interstitielle Infiltrationen bei einer 3 Tage alten Pyelonephritis. Nierenrinde und Außenstreifen des Markes. Typische OTC-Fl. nur in den intakten Nephren. Dosis 25 mg/kg OTC i.p. 4 Std. (Tier 29 li., Kodak Tri X Pan, Bel. 4o Min., Vergr. 35fach)

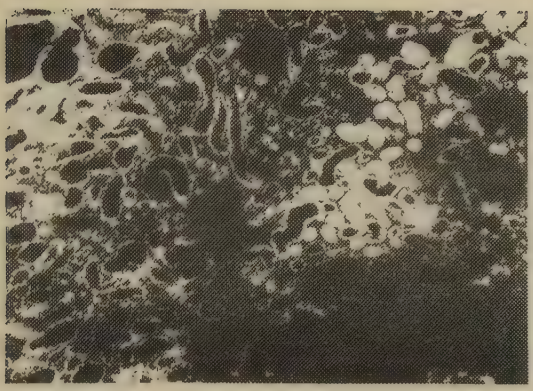


Abb. 13

Interstitielle Nephritis ohne Harnstauung. Rinden-Markgrenze. Intensive OTC-Fl. der intakten Hauptstückepithelien. Geringe Fl. der interstitiellen Infiltrate. (Tier 52 re, Kodak Tri X Pan, Bel. 4o Min., Vergr. 75fach)

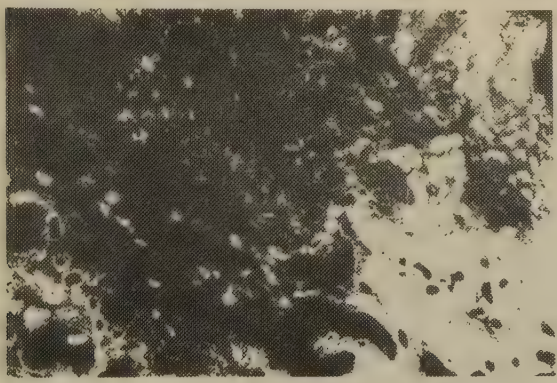


Abb. 14

Subakute interstitielle Nephritis (E.coli) bei Ureterstenose. Rinden-Markgrenze. Intensive Tetracyclin-Fl. der intakten Hauptstücke, aber auch deutliche Fl. der interstitiellen Infiltrate. Dosis 3 Tage 2 x 25 mg/kg i.p. (Tier 11 li., Kodak Tri X Pan, Bel. 45 Min. Vergr. 75fach)

Abb. 15

Schwere interstitielle Nephritis, Außenzone des Markes nach Behandlg mit 3 x 25 mg/kg OTC über 16 Std. Nur im Blut eines größeren Gefässes und in geringerem Umfange auch in den Epithelien einzelner Tubuli geringere OTC-Fl. Das übrige Gewebe zeigt im wesentlichen eine Eigenfl. (Tier 52 re., Bel. 8 Min., Vergr. 40fach)

Abb. 16

Nierenrindenabszeß mit zentraler Nekrose. Im umgebenden Randwall keine wesentliche Fl. Starke OTC-Einlagerungen in die Nekrose. Schwache Fl. der intakten Tubuli (rechter Bildrand). Dosis 25 mg/kg i.p. 3 Stunden. (Tier 37 re., Bel. 35 Min., Vergr. 75-fach)

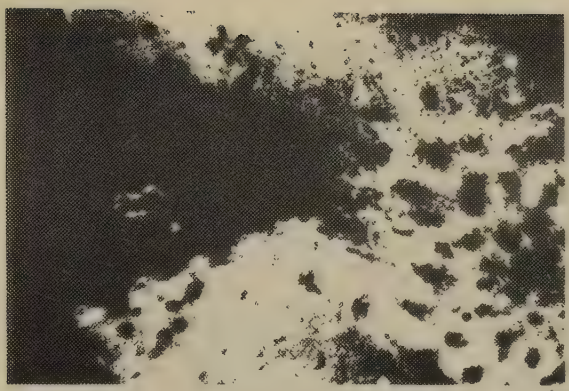


Abb. 17

8 Tage alter ischämischer Infarkt ohne jegliche OTC-Fl. Dosis 25 mg/kg OTC 3 Stunden nach intraperitonealer Injektion. (Tier 17, Ilford HPS, Bel. 2 Min., Vergr. 30fach)

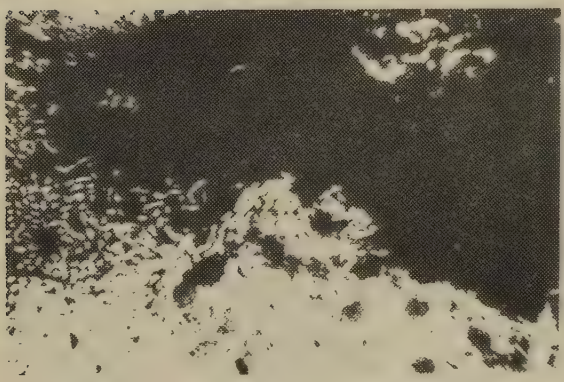


Abb. 18

Ausschnitt von Abb. 17
(Bel. 1 Min., Vergr. 100fach)

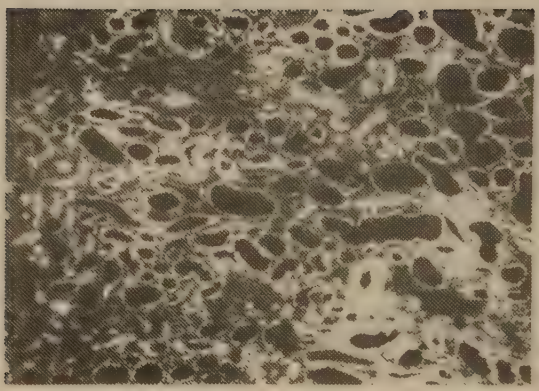


Abb. 19

Infizierte Harnstauungsniere, 8 Tage nach inkompletter Ureterligatur. Beginnende Hydronephrose mit trübem Urin. 3tägige Behandlung mit 2 x 25 mg/kg OTC. Deutliche Fl. auch der interstitiellen Infiltrate. (Tier 17 li., Tri X Pan, Bel. 45 Min., Vergr. 80fach)

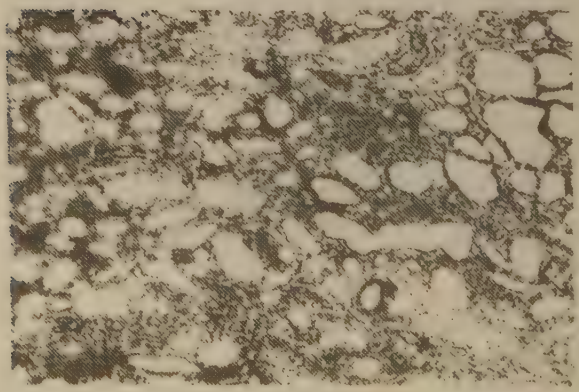


Abb. 2o

Stufenschnitt zu Abb. 19
Gefrierschnitt nativ im Formalindampf fixiert. H.E.-Färbung (Adox KB 14, Vergr. 80fach)

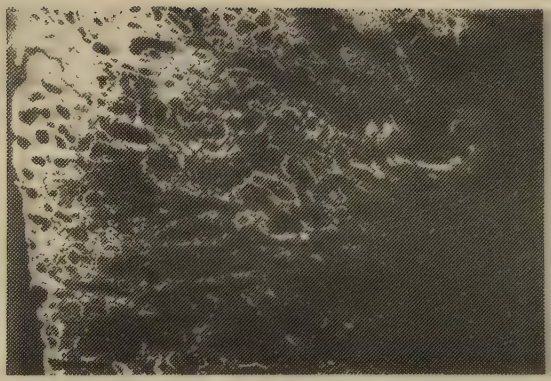


Abb. 21

Infizierte Harnstauungsniere (beginnende Hydronephrose). 6 Tage nach intermittierender Ureteranschlingung und Infektion. Deutliche Gelb-Fl. in einzelnen nicht stärker dilatierten Tubuli der Rinde. In der Innenzone und Außenzone des Markes nur noch Eigenfl. Dosis 8 stdl. 25 mg/kg OTC über 2,5 Tage. (Tier 28 li., Bel. 3 Min., Vergr. 40fach)

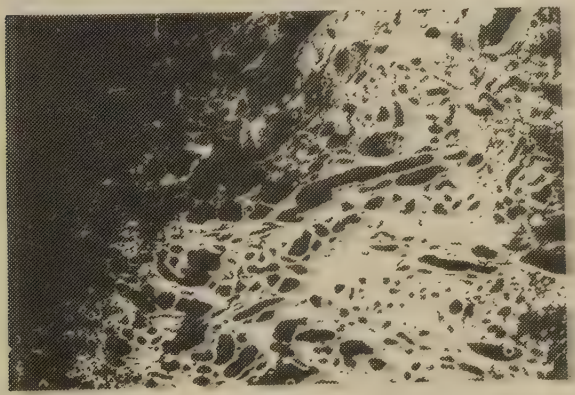


Abb. 22

Wie oben. Einbettung Karion-F. Die Tubulusepithelien auch der weniger stark dilatierten Kanälchen weisen noch eine deutliche OTC-Fl. auf. (Tri X Pan, Bel. 13 Min., Vergr. 35fach)

13. Literaturverzeichnis

ALTMANN, R. — Die Elementarorganismen und ihre Beziehungen zu den Zellen. Veit und Company 35, 16o (1894)

BÖTTIGER, L.E. — On the Distribution of Tetracycline in the Body. Antibiotics and Chemotherapy 5, 332-339 (1955)

BEESON, P., B. — Factors in the Pathogenesis of Pyelonephritis Yale J. Biol. 28, 81 (1955)

BRAUDE, A.J., SHAPIRO, A.P. and SIEMINSKI, J. — Hematogenous Pyelonephritis in Rats, its pathogenesis when produced by simpel new methods. J. Clin. Invest. 34, 1489 (1955)

DOMADIAN, R.V. SHWAYRI, E. and BRICKER, N.S. — On the Existence of non-urine forming Nephrons in the diseased Kidney of the Dogs. J. Lab. clin. Med. 65, 26 (1965)

ENGELUND, A., TERP, P. und TROLLE-LASSEN, C. — Studies on Renal Excretion of Tetracycline Acta pharmacol. et toxicol. 12, 227 (1956)

ELLINGER, P. und HIRT, A. — Eine Methode zur Beobachtung lebender Organe mit stärksten Vergrößerungen im Luminiszenzlicht. Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden 5, 15 (193o)

GERSH, J. — Altmann Technique for Fixation by Drying while Freezing Anat. Rec 53, 3o9 (1932)

GORILL, R.H. — The Effect of Obstruction of the Ureter on the renal Localization of Bacteria. J. Path. and Bact. 72, 59 (1956)

GORILL, R.H. The Establishment of stabpylococcal Abscesses in the Mouse Kidney Brit. J. Exp. Path. 39, 2o3 (1958)

GORILL, R.H. Bacteriology and Pathogenesis of Experimental Pyelonephritis. Biology of Pyelonephritis 3 (1959) E.L. Quinn and E.H. Kass, Little, Brown and Comp., Boston

GUZE, L.B. and BEESON, P.B. Observations on the Reliability and Safety of Bladder Catheterization for Bacteriologic Study of the Urine. New Engl. J. Med. 255, 474 (1956)

GUZE, L.B. and BEESON, P.B. Experimental Pyelonephritis I. Effect of Ureteral Ligation on the Course of Bacterial Infection in the Kidney of the Rat. J. Exper. Med. 1o4, 8o3 (1956)

GUZE, L.B. and BEESON, P.B. Experimental Pyelonephritis II. Effect of Partial Ureteral Obstruction on the Course of Bacterial Infection in the Kidney of the Rat and the Rabbit. Yale J. Biol. Med. 3o, 315 (1958)

GUZE, L.B., GOLDNER, B.H., FINEGOLD, S. and HEWITT, W. Observations on the Course of chronic non obstructed Pyelonephritis in the Rat. J. Clin. Invest. 38, 1oo9 (1959)

HÄKKINEN, J. The Fluorescence of Tetracycline in Rats treated with Dihydrotachysterol Acta Physiol. Scand. 42, 282 (1958)

HELANDER, S. Nachweis von Prontosil solubile in histologischen Gewebsschnitten mit Hilfe der Fluoreszenzmikroskopie Acta Physiol. Scand. 8, 134 (1944)

HELANDER, S. Detection of Chemotherapeutics in Thin Sections of Tissue by the Aid of Fluorescence Mikroskopy. Nature, 155, 1o9 (1945)

HELANDER, S. and BÖTTIGER, L. On the Distribution of Terramycin in Different Tissues. Acta Medica Scandinavica CXLVII, 71 (1953)

HEPTINSTALL, R.H. and GORILL, R.H. Experimental Pyelonephritis and its Effect on the Blood Pressure. J. Path. and Bact. 69, 191 (1955)

HEPTINSTALL, R.H. Experimental Pyelonephritis. Bacteriological and Morphological Studies on the Ascending Route of Infection in the Rat. Nephron 1, 73 (1964)

HEPTINSTALL, R.H. Experimental Pyelonephritis. A Comparison of Blood Borne and Ascending Patterns of Infection. J. Path. Bact. 89, 71 (1965)

HEROLD, M., MALEK, P., URX, M. and KOLC, J. Accumulation and Deposition of Tetracycline Antibiotics in Bones of Chickens fed Diets containing these Antibiotics. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 96o (1961)

HUBMANN, R. Antibiotikatherapie in der Urologie. Urologe 2, 13 (1963)

HUBMANN, R. und BRÜHL, P. Ergebnisse der Langzeitbehandlung der chronischen Cysto-Pyelonephritis. Urologe 5, 15 (1966)

HUBMANN, R. Chemotherapie - Kongreß Wien 1967

KASS, E.H. Chemotherapeutic and Antibiotic Drugs in the Management of Infections or Urinary Tract. Amer. J. Med. 18, 764 (1955)

KASS, E.H. Bacteriuria and Pyelonephritis of Pregnancy. Arch. Int. Med. 105, 194 (1960)

KORNAMO, M. Fluorescent Staining of Spermatid Heads with Oxytetracycline. Mikroskopie 19, 273 (1964)

KULENKAMPFF, H. Funktionelle Veränderungen an den Deckzellen der Glomerulacapillaren der Katzenniere. Zeitschrift für Anatomie 117, 520 (1954)

KUNIN, C.M., DORNBUSH, A.C. and FINLAND, M. Distribution and Excretion of four Tetracycline Analogues in Normal Young Men. J. Clin. Invest. 38, 1950 (1959)

KUNIN, C.M. Comparative Serum Binding, Distribution and Excretion of Tetracycline and a New Analogue, Methacycline. Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 110, 311 (1962)

LEPPER, E.H. The production of coli form infection in the urinary tract of rabbits. J. Path. and Bact. 24, 192 (1921)

LOOSE, H. and KIENITZ, M. Die Pyelonephritis Verlag Georg Thieme, Stuttgart (1966)

MALEK, P., ROKOS, J., BURGER, M., KOLC, J. and PROCHAZKA, P. The Effect of Antibiotics of the Tetracycline Group on Enzymes and the Practical Clinical Significance thereof. Antib. Ann. 221-224 (1958/59)

MALEK, P. and KOLC, J. Penetration of Chlortetracycline into Tissue Affected by Pathological Changes. Antibiot. and Chemother. 1o, 488 (196o)

MALEK, P., KOLC, J. and ZAK, F. Futher Studies of Fluorescence of Tetracycline Analogues in pathologically changed Tissues. Antimicrobial Ag. Ann. 2o6 (196o)

MALEK, P., KOLC, J., ZAK, F. and ZASTAVA, V. New Aspects of Tetracycline Analogues. Distribution and Fixing in pathologically changed Tissue. Chemotherapia 5, 269 (1962)

MALEK, P., ZASTAVA, V., ZAK, F., KOCVARA, S. and KOLC, J. Distribution and Retention of Tetracycline Analogues in Kidney Tissue in some pathological Conditions. The Journal of Urology 89, 784 (1963)

McCABE, W., R. and JACKSON, G.G. Gram negative bacteremia. I. Etiology and ecology. Arch. Int. Med. 11o, 847 (1962)

MILBERG, M.B., KAMHI, B. and BANOWITCH, M.M. Pharmacology and Therapeutic Efficacy of Tetracycline. Antibiotics et Chemotherapy 4, 1o86 (1954)

NAUMANN, P. und HUBMANN, R. Zur antibakteriellen Therapie urologischer Infektionen. Urologe 5, 9 (1966)

PRAT, V., BENESOVA, D., PAVKOVA, L. and CERVINKA, F. The relationship of urinary obstruction to experimental chronic Pyelonephritis in the rabbit. Acta med. scand. 165, 3o5 (1959)

PRAT, V. and BENESOVA, D. The significance of the time relationship between temporary ureteral occlusion and E.coli bacteriaemia for the development of experimental chronic pyelonephritis in the rabbit. Urol. Int. 15, 156 (1963)

PRAT, V., HATALA, M. and BENESOVA, D. Pathogenicity of several strains of E.coli for the intact rabbit kidney and urinary passage. Zbl. Bakt. I. 192, 455 (1964)

PRAT, V., HATALA, M. and BENESOVA, D. Effect of chlortetracycline and oxytetracycline on the course of experimental coli bacteria pyelonephritis. Cas.lek.Cesk. 103, 1153 (1965)

PRAT, V. Die Infektionswege "Die Pyelonephritis" 9 (1966) Georg Thieme Verlag, Stuttgart

REGNA, P.B., and SOLOMONS, I.A. The Chemical and Physical Properties of Terramycin Ann of the New York Acad. Sic. 53, 229 (1950)

SALZMANN, A. Fluorophotometric Estimation of Aeromycin in blood and urine. J. Lab. Clin. Med. 35, 123 (1950)

SCHACH VON WITTENAU, M. and YEARY, R. The excretion and distribution in body fluids of Tetracyclines after intravenous administration to dogs. J. Pharmacol. Exp. Therapy 140, 258 (1963)

SJÖSTRAND, F. Über die Eigenfluoreszenz tierischer Gewebe mit besonderer Berücksichtigung der Säugetierniere. Stockholm (1944)

SPITZKY, K.H. Fortschritte der Tetracyclin-forschung. Antibiotica et Chemotherapia 1o, 193 (1962)

STAMEY, T.A., GOVAN, D.E., PALMER, J.M. The localication and treatment of urinary tract infection. The role of bacterical urine levels as apposes to serum levels. Medicine 44, 1 (1965)

TAPP, E., CARROLL, R., and KOVACS, K. Tetracycline Fluorecence in Experimental Renal Lesions. Arch. Path. 12, 629 (1965)

TURCK, M., BROWDER, A., LINDENMEYER, R.J., BROWN, N.K., ANDERSON, K.N. and PETERSDORF,R. Failure of prologed treatment of chronic urinary tract infections with antibiotics. New Engl. J.Med. 267, 99 (1962)

TURCK, M., ANDERSON, K.N. and PETERSDORF,R. Relapse and reinfection in chronic bacteriuria. New Engl. J. Med. 275, 7o (1966)

VIVALDI, E., ZANGWILL, D.P., COTRAN, R. and KASS, E.H. Experimental Pyelonephritis Consequent to Induction of Bacteriuria. Biology of Pyelonephritis 27 (1959) E.L. Quinn and E.H. Kass Little, Brown and Comp., Boston

VIVALDI, E., COTRAN,R., ZANGWILL, D.and KASS, E.H. Ascending infection as a mechanism in pathogenesis of experimental non-obstructive pyelonephritis. Proc. Soc. exp. Biol. N.Y.1o2, 242 (1959)

WELCH, H. Absorption, Excretion and Distribution of Terramycin. Annals of the New York Academy of Sience, 53, 253 (195o)

WEYRAUCH, H.M. and BASSET, B.J.	Ascending infection in an artifical urinary tract. Stanf. med. Bull 9, 25 (1951)
WOODS, J.W.	Non-obstructive Escherica coli pyelonephritis in the rat. Proc. Soc. exp. Biol. N.Y. 104, 116 (1960)
WRIGHT, S.S., PURCELL, E.M., LOVE, B.D., MON, T.W., KASS, E.H. and FINLAND, M.	Clinical and Laboratory Observations of Tetracycline. Antibiotics Annuals 1953/54 N.Y. Med. Encyclopedia 92 (1953)
ZUM WINKEL	Nierenszintigraphie Urol. 3, 1 (1964)

14. Danksagung

Für die freundliche Unterstützung meiner Arbeit und die Überlassung des Laborplatzes danke ich Herrn Professor Dr. med. C. E. ALKEN.

Herrn Privatdozenten, Chefarzt Dr. med. R. HUBMANN danke ich für die Überlassung des Themas und für die sehr freundliche Betreuung bei der komplizierten Durchführung der Experimente.

Herrn Privatdozenten Dr. rer. nat. G. GUNDLACH bin ich zu Dank verpflichtet, der mir mit seinen reichen Erfahrungen als Leiter des Labors der Urologischen Universitätsklinik zur Seite stand.

Herr Privatdozent Dr. med. K. H. BOOZ und Herr Dr. med. W. MOOTZ unterstützten mich bei der Herstellung der Gefrierschnitte und bei der Anfertigung der photographischen Bilder. Ihnen sei an dieser Stelle herzlich gedankt.

15. Lebenslauf

Am 7. April 1936 wurde ich, Günther Stephan, als viertes Kind des Bürovorstehers Karl Stephan und seiner Ehefrau in Posen geboren. Meine Schulzeit begann in Posen und endete in Luckau, Niederlausitz, wo ich als 19jähriger das Abitur an der Oberschule Luckau bestand. Anschließend leistete ich einen 14monatigen Wehrdienst in der Nationalen Volksarmee in der DDR ab.

Vom Dezember 1956 bis August 1957 arbeitete ich als Hilfskrankenpfleger am Bezirkskrankenhaus in Cottbus. Nach meiner Übersiedlung nach Westberlin, September 1957, bestand ich im Juni 1958 die Anerkennungsprüfung für das Reifezeugnis der DDR. Meine Studien begann ich in Hamburg, wo ich das Vorphysikum bestand. In Homburg/Saar legte ich das Physikum ab. Hier belegte ich auch alle klinischen Semester und bestand das medizinische Staatsexamen im Januar 1967. Die Medizinalassistentenzeit leistete ich an der Urologischen Klinik, am Pathologischen Institut der Universität des Saarlandes und am Ev. Fliednerkrankenhaus Neunkirchen/Saar ab.
Die Bestallung als Arzt erhielt ich am 12. Juni 1969. Seit dem 1. August 1969 arbeite ich als Assistenzarzt auf der Chirurgischen Abteilung am Evangelischen Krankenhaus Zweibrücken.

Homburg, im Februar 1970 Günther Stephan